

Revisiting the black box of biological wastewater treatment

The first objective of this study was to create an exhaustive inventory of the microorganisms present at the various stages of wastewater treatment (WWT). This inventory was performed by cloning and analyzing 16S rDNA amplified by PCR from DNA extracted from three locations, i.e.: the aerobic and anoxic basins as well as an anaerobic mesophilic digester. 16S rRNA gene-based phylogenetic studies have demonstrated the enormous range and extent of the microbial diversity present in the three main stages of the Evry wastewater treatment plant. Furthermore, these results highlighted the existence of many new archaeal and bacterial lineages as well as the presence of a new bacterial candidate division named WWE1.

In another study, a large survey of the archaeal and bacterial diversity in full-scale anaerobic digesters was performed. 16S rRNA gene libraries were produced from 31 digesters treating wastewater sludge and selected for their technology and process, the type of effluent and the water quality. This study revealed that predominant phylogenetic groups were found within all the digesters and could constitute core groups or microorganisms involved in the anaerobic digestion process. The remaining microorganisms, as targeted by their 16S rRNA gene sequences, should represent endemic species.

More recently, a molecular survey of eukaryotic diversity was performed in the same three main stages of the Evry WWTP and gave another line of evidence of the complexity of the organisms present.

The abundance of the microbial lineages as well as phages was confirmed by a metagenomic approach. Large insert metagenomic libraries were useful for identifying exotic 16S rRNA gene sequences and could allow the discovery of new prokaryotic phyla, including candidate divisions with no cultivated representative. It is not impossible to reconstruct complete genomes even from complex metagenomes. Metagenomic clone material can be readily used for functional studies. Metagenomic sequence data can provide clues about biochemical pathways and their variations. With decreasing cost and high throughput, new sequencing technologies may represent an alternative for a nearly exhaustive identification of all the prokaryotic divisions in natural environments and for comparative metagenomics.

Key words: Metagenomics, Microbial diversity, 16S rRNA genes, Archaea, Bacteria, Eukarya

Abdelghani SGHIR Ph.D
Professeur des Universités
Université d'Evry Val d'Essonne
Laboratoire de la métagénomique des Procaryotes
CEA-Genoscope, UMR-8030, 91025 Evry, France
Tel : 01 69 47 01 70 ; Fax 01 60 87 25 14
Tel : 01 60 87 25 14
<http://www.genoscope.cns.fr>
<http://www.univ-evry.fr>

Etudes Structurales de la protéine gp41 de l'enveloppe du virus du SIDA dans une perspective de vaccin

Flavio TOMA¹, Marie-Jeanne CLEMENT¹, Jérôme COUTANT¹, Annette ALFSEN², Morgane Bomsel², Patrick CURMI¹

(1)Structure Activité des Biomolécules Normales et Pathologiques, INSERM-U829, Université d'Evry, EA3637, Evry, France

(2)Entrée muqueuse du VIH et Immunité muqueuse, CNRS-UMR 8104, INSERM-U567, Institut Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

L'enveloppe du virus du SIDA (VIH-1) présente deux glycoprotéines, gp120 et gp41, qui constituent les spicules par lesquels le virus interagit et pénètre dans les cellules hôte (lymphocytes T, macrophages et cellules épithéliales essentiellement). gp120 participe à la reconnaissance et à la liaison du virus aux récepteurs CD4 et CCR5 des cellules hôte, libérant ainsi l'ectodomaine de la protéine trans-membranaire gp41 pour l'interaction avec la membrane de l'hôte et la fusion des deux membranes. Ce processus permet l'entrée de la nucléocapside de VIH dans la cellule. Plusieurs anticorps liant gp120 ou gp41 ont été isolés de sérum d'individus infectés par le VIH-1 ; certains d'entre eux sont neutralisants et à cet égard sont intéressants en vue d'établir des stratégies vaccinales. 2F5 et 4E10 sont ainsi deux anticorps monoclonaux neutralisants qui lient gp41 avec une haute affinité dans la région proche du domaine trans-membranaire (Membrane-Proximal External Region, MPER). De façon surprenante, le fragment 649-683 (peptide P1) de la MPER qui contient les épitopes reconnus par 2F5 et 4E10 ainsi que le site de liaison au récepteur GalCer des cellules épithéliales sur lequel se fixe VIH n'est pas immunogène. Pour comprendre l'absence d'immunogénicité de P1 nous avons étudié sa structure en solution par résonance magnétique nucléaire. Les résultats montrent qu'en solution aqueuse P1 ne présente pas de structure préférée et a une forte tendance à l'agrégation en rapport avec la présence d'un domaine hautement hydrophobe (W-rich domain) situé dans sa partie C-terminale. En revanche, P1 se structure en hélice α au contact de micelles de DPC (Dodécyl phosphocholine ; [P1] : [micelles] ~ 1 : 1) et reste monomérique. La taille et la stabilité de cette hélice dépendent du pH. Ainsi à pH proche du pH physiologique (pH 6,5), l'hélice va des résidus 665 à 680 et interagit à la surface des micelles par le domaine W-rich. De façon intéressante, la structure en solution des deux épitopes reconnus par 2F5 et 4E10 est superposable à celle observée à l'état solide dans des complexes formés entre les anticorps 2F5 et 4E10 et des fragments de P1. En s'appuyant sur ces résultats, nous avons enfin pu démontrer que l'affinité de P1 pour ces deux anticorps augmente de manière significative (5 à 10 fois) en présence de micelles ou lorsque P1 est lié à des liposomes et que son affinité dépend de la composition en lipides. Ces résultats présentent un intérêt pour proposer de nouvelles stratégies de vaccination.